

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP 2004/004621

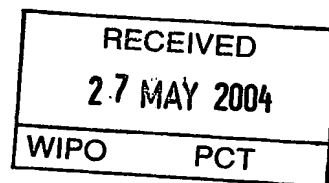
31.3.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年 3月31日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-095732
[ST. 10/C]: [JP 2003-095732]



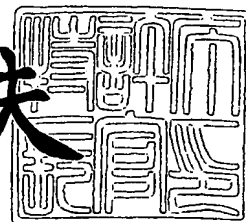
出 願 人
Applicant(s): 株式会社 メディカル・プロテオスコープ

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月13日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特2004-3039734

【書類名】 特許願

【整理番号】 P03-0237

【提出日】 平成15年 3月31日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 30/72

【発明の名称】 試料解析方法及び試料解析プログラム

【請求項の数】 24

【発明者】

【住所又は居所】 東京都八王子市梶田町 5 3 9 - 6 エクレールB棟 1 0 1 号

【氏名】 萩原 淳

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県さいたま市白幡 4 - 1 9 - 2 吉野マンション 3 0 3 号

【氏名】 川上 隆雄

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市池向 1 5 1 2 - 4 5

【氏名】 西村 俊秀

【特許出願人】

【住所又は居所】 東京都新宿区西新宿 2 - 6 - 1 新宿住友ビル

【氏名又は名称】 株式会社 メディカル・プロテオスコープ

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100118773

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤田 節

【選任した代理人】

【識別番号】 100096183

【弁理士】

【氏名又は名称】 石井 貞次

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 試料解析方法及び試料解析プログラム

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料の分析の結果として得られた多次元スペクトルデータにおける、少なくとも 1 次元のパラメータを補正する工程 a と、

上記工程 a により得られる補正後のデータを、複数の試料について比較する工程 b と

を含む試料解析方法。

【請求項 2】 上記多次元スペクトルデータは、クロマトグラフィー質量分析の結果として得られる、質量/電荷比を示すパラメータと、イオン強度を示すパラメータと、保持時間を示すパラメータとからなる 3 次元スペクトルデータであり、上記工程 a では保持時間を示すパラメータを補正することを特徴とする請求項 1 記載の試料解析方法。

【請求項 3】 上記工程 a では、複数の試料の分析結果として得られた複数の多次元スペクトルデータにおける少なくとも 1 次元のパラメータについて、動的計画法のアルゴリズムに従って補正することを特徴とする請求項 1 記載の試料解析方法。

【請求項 4】 上記動的計画法のアルゴリズムでは、補正の対象となるパラメータに含まれるデータ点の最適な対応関係を、スコアを算出して評価する際に、標準物質に由来するデータ点に関する対応関係については、当該スコアを良くする設定とすることを特徴とする請求項 3 記載の試料解析方法。

【請求項 5】 上記試料は、蛋白質群及び/又はペプチド群を含むことを特徴とする請求項 1 記載の試料解析方法。

【請求項 6】 上記複数の試料は、標準物質を含むことを特徴とする請求項 1 記載の試料解析方法。

【請求項 7】 試料に含まれる成分に関する質量/電荷比、イオン強度及び保持時間からなる 3 次元パラメータを測定する工程 c と、

上記工程で測定した 3 次元パラメータを用いて、試料に含まれる成分の分析を行う工程 d と

を含む試料解析方法。

【請求項 8】 上記工程 d では、保持時間を示すパラメータを補正すること
特徴とする請求項 7 記載の試料解析方法。

【請求項 9】 上記工程 d では、動的計画法のアルゴリズムに従って保持時間
を示すパラメータを補正することを特徴とする請求項 7 記載の試料解析方法。

【請求項 10】 上記動的計画法のアルゴリズムでは、保持時間を示すパラ
メータに含まれるデータ点の最適な対応関係を、スコアを算出して評価する際に
、標準物質に由来するデータ点に関する対応関係については、当該スコアを良く
する設定とすることを特徴とする請求項 9 記載の試料解析方法。

【請求項 11】 上記試料は、蛋白質群及び/又はペプチド群を含むことを
特徴とする請求項 7 記載の試料解析方法。

【請求項 12】 上記試料は、標準物質を含むことを特徴とする請求項 7 記
載の試料解析方法。

【請求項 13】 試料の分析の結果として得られた多次元スペクトルデータ
を入力する手順 a と、

入力された多次元スペクトルデータのうち少なくとも 1 次元のパラメータにつ
いてデータを補正する手順 b と、

上記手順 b で補正した後のデータを含む多次元スペクトルデータを、複数の試
料について比較する手順 c と

をコンピュータに実行させる試料解析プログラム。

【請求項 14】 上記多次元スペクトルデータは、クロマトグラフィー質量
分析の結果として得られる、質量/電荷比を示すパラメータと、イオン強度を示
すパラメータと、保持時間を示すパラメータとからなる 3 次元スペクトルデータ
であり、上記手順 b では保持時間を示すパラメータについてデータを補正するこ
とを特徴とする請求項 13 記載の試料解析プログラム。

【請求項 15】 上記手順 b では、動的計画法のアルゴリズムに従ってデー
タを補正することを特徴とする請求項 13 記載の試料解析プログラム。

【請求項 16】 上記動的計画法のアルゴリズムでは、補正の対象となるパ
ラメータに含まれるデータ点の最適な対応関係を、スコアを算出して評価する際

に、標準物質に由来するデータ点に関する対応関係については、当該スコアを良くする設定とすることを特徴とする請求項 1 5 記載の試料解析プログラム。

【請求項 1 7】 上記試料は、蛋白質群及び/又はペプチド群を含み、当該蛋白質群及び/又はペプチド群に由来する多次元スペクトルデータを解析することを特徴とする請求項 1 3 記載の試料解析プログラム。

【請求項 1 8】 上記複数の試料は標準物質を含み、上記手順 b ではこれら標準物質に由来するデータ及び上記試料に含まれる成分に由来するデータを用いること特徴とする請求項 1 3 記載の試料解析プログラム。

【請求項 1 9】 試料に含まれる成分に関する質量/電荷比、イオン強度及び保持時間からなる 3 次元パラメータに関するデータを入力する手順 d と、

上記手順 d で入力した 3 次元パラメータに関するデータを用いて、試料に含まれる成分の分析を行う手順 e と

をコンピュータに実行させる試料解析プログラム。

【請求項 2 0】 上記手順 d では、保持時間を示すパラメータに関するデータを補正すること特徴とする請求項 1 9 記載の試料解析プログラム。

【請求項 2 1】 上記手順 d では、動的計画法のアルゴリズムに従って保持時間を示すパラメータに関するデータを補正することを特徴とする請求項 1 9 記載の試料解析プログラム。

【請求項 2 2】 上記動的計画法のアルゴリズムでは、保持時間を示すパラメータに含まれるデータ点の最適な応関係を、スコアを算出して評価する際に、標準物質に由来するデータ点に関する対応関係については、当該スコアを良くする設定とすることを特徴とする請求項 2 1 記載の試料解析方法。

【請求項 2 3】 上記試料は、蛋白質群及び/又はペプチド群を含み、当該蛋白質群及び/又はペプチド群に由来する 3 次元パラメータに関するデータを解析することを特徴とする請求項 1 9 記載の試料解析プログラム。

【請求項 2 4】 上記試料は標準物質を含み、上記手順 d ではこれら標準物質に由来するデータ及び上記試料に含まれる成分に由来するデータを用いること特徴とする請求項 1 9 記載の試料解析プログラム。

【発明の詳細な説明】

【0001】**【発明の属する技術分野】**

本発明は、試料の分析の結果として得られた3次元スペクトルデータを用いた試料解析方法及び試料解析プログラムに関する。

【0002】**【従来の技術】**

例えば、液体クロマトグラフィー（以下LCと略記する）と質量分析（以下MSと略記する）を連結した液体クロマトグラフィー質量分析（以下LC-MSと略記する）の結果として、横軸に質量／電荷比（以下 m/z と略記する）、縦軸にイオン強度をとったグラフとして2次元スペクトルデータを得ることができる。ここで、LCの役割は、MSの処理能力に適應させるために、試料を単に分画することにある。

【0003】

すなわち、LCによって分画された試料をMSで分析することによって、上述したような2次元スペクトルデータを得ることができ、試料中の成分分析を行うことができる。

ところが、従来のLC-MSでは、検体中から検出・識別できるタンパク質の種類が網羅的でなく、分析能・解析能が低いといった問題がある。

【0004】**【発明が解決しようとする課題】**

そこで、本発明は、上述したような実状に鑑み、試料に含まれる成分を分析するに際して、優れた分析能を達成することができる試料解析方法及び試料解析プログラムを提供することを目的としている。

【0005】**【課題を解決するための手段】**

上述した目的を達成した本発明は以下を包含する。

（1）試料の分析の結果として得られた多次元スペクトルデータにおける、少なくとも1次元のパラメータを補正する工程aと、

上記工程aにより得られる補正後のデータを、複数の試料について比較する工

程 b と

を含む試料解析方法。

【0006】

上記(1)の発明では、例えば、クロマトグラフィー質量分析の結果として得られる、質量/電荷比を示すパラメータと、イオン強度を示すパラメータと、保持時間を示すパラメータとからなる3次元スペクトルデータにおいて、保持時間を示すパラメータを補正することができる。これにより、クロマトグラフィー質量分析の結果として得られる3次元スペクトルデータを、複数の試料について比較することができる。ここで、補正する手法としては、例えば、動的計画法のアルゴリズムを適用することができる。

【0007】

(2) 試料に含まれる成分に関する質量/電荷比、イオン強度及び保持時間からなる3次元パラメータを測定する工程 c と、

上記工程で測定した3次元パラメータを用いて、試料に含まれる成分の分析を行う工程 d と

を含む試料解析方法。

【0008】

上記(2)の発明では、例えばクロマトグラフィー質量分析によって、試料に含まれる成分に関する質量/電荷比、イオン強度及び保持時間からなる3次元パラメータを測定することができる。

また、上記(1)及び(2)の発明は、コンピュータに実行させるためのプログラムとして実現することができる。

【0009】

【発明の実施の形態】

以下、図面を参照して本発明を詳細に説明する。

本発明に係る試料解析方法では、先ず、解析対象の試料を採取する。解析対象の試料としては、特に限定されないが、例えば、動物個体より由来の臓器・組織・血漿・リンパ液などの体液成分、植物の緑葉や花卉などの器官、環境中の土壌・水成分などがあげられる。これらの試料より抽出された分析対象物質としては

、特に以下に限定されないが、例えば、有機化合物・無機化合物・有機金属化合物・金属イオン・ペプチド・蛋白質・金属蛋白質・リン酸化を含む翻訳後修飾を受けたペプチド・リン酸化を含む翻訳後修飾を含む蛋白質・核酸・糖質・脂質などがあげられるが、特に望ましくはペプチド・蛋白質・金属蛋白質・翻訳後修飾を受けたペプチドもしくは蛋白質である。

【0010】

また、採取した試料は、分析の目的及び採取した試料の特性に合わせて、必要であれば各種処理を施すことが好ましい。例えば、(ア)タンパク質群の分離あるいは分画、(イ)タンパク質群の酵素的及び/又は化学的切断、(ウ)切断によって生じたペプチド混合物の分離あるいは分画、および(エ)標準物質の添加、の全ての要素あるいは一部の要素の組み合わせて行う分析前調製を施すことが好ましい。

【0011】

より具体的に、「(ア)タンパク質群の分離あるいは分画」は、一次元のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)電気泳動法、二次元電気泳動法、キャピラリー電気泳動法、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、或いはこれらの組み合わせによる多次元分離・分画等によって行うことができる。

【0012】

また、「(イ)タンパク質群の酵素的及び/又は化学的切断」は、トリプシン消化、キモトリプシン消化、Lys-C消化、Asp-N消化、臭化シアンによる切断、Asp-C分解或いはこれらの組み合わせによる切断等によって行うことができる。

【0013】

さらに、「(ウ)切断によって生じたペプチド混合物の分離あるいは分画」は、一次元のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)電気泳動法、二次元電気泳動法、キャピラリー電気泳動法、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー或いはこれらの組み合わせによる多次元分離・分画等によって行

うことができる。

【0014】

さらにまた、「(エ) 標準物質の添加」において標準物質は、選択したイオン化法にてイオン化できるものであって、測定のLC保持時間の範囲内に溶出するのであって、溶出時間および分子イオン強度の再現性が高いものを選択することが好ましい。このような好ましい標準物質としては、例えば、有機化合物、無機化合物、有機金属化合物、金属イオン、ペプチド、蛋白質、金属蛋白質、リン酸化を含む翻訳後修飾を受けたペプチド、リン酸化を含む翻訳後修飾を含む蛋白質、核酸、糖質、脂質など、より好ましくは、ペプチド・蛋白質で市販品、天然に存在する物質あるいは合成された物質を挙げることができる。

【0015】

以上、(ア)～(エ)に示した分析前調製は、例えば、「ア、エ、イ、ウの順」、「エ、イ、ウの順」、「イ、エ、ウの順」、「エ、アの順」、「エ、イの順」、「イ、エの順」又は「エのみ」で行うことができる。

【0016】

次に、試料をLC-MSにより分析し、質量/電荷比（以下、 m/z と称する）、イオン強度及び保持時間を測定する。ここで、LC-MSにより分析するとは、試料をクロマトグラフィーの原理に従って分離又は分画し、その後、分離又は分画された試料に含まれる成分を質量分析の原理に測定することを意味する。なお、保持時間は、試料をクロマトグラフィーの原理に従って分離又は分画する際の時間として測定される。また、 m/z 及びイオン強度は、質量分析の結果として測定される。

【0017】

また、クロマトグラフィーの原理としては、特に限定されないが、逆相クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動、アフィニティークロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、等電点フォーカシング、ゲルろ過クロマトグラフィー等の各種クロマトグラフィーの原理を適用することができる。特に、本明細書においてLCと表記する場合、液体クロマトグラフィーのみを意味するのではなく、広く一般的なクロマトグラフィーを意味する。

【0018】

LC-MSにおけるクロマトグラフィーでは、再現性の高い溶出プロファイルが得られること、分離能が高いこと、適当なイオン化のインターフェースを介してMSに直接分子イオンを導入することが可能であることが好ましい。

【0019】

より具体的に、液体クロマトグラフィーにおける好ましい条件としては次の通りである。ペプチド群の分析には、水・アセトニトリル溶液に低濃度の蟻酸などの強酸を含む溶離液を用いたC18カラムによる逆相液体クロマトグラフィーが好ましい。また蛋白質群の分析には、水・アセトニトリル溶液に低濃度の蟻酸などの強酸を含む溶離液を用いたC4カラムによる逆相液体クロマトグラフィーが好ましい。

【0020】

質量分析としては、特に限定されないが、磁場型質量分析計、飛行時間型質量分析計、四重極質量分析計、イオントラップ質量分析計、フーリエ変換質量分析計またはこれらのハイブリッド及びタンデム質量分析計等を適用することができる。より好ましくは、エレクトロスプレーイオン化またはナノエレクトロスプレーイオン化と結合できる磁場型質量分析計、飛行時間型質量分析計、四重極質量分析計、イオントラップ質量分析計、フーリエ変換質量分析計またはこれらのハイブリッド及びタンデム質量分析計が好ましい。

【0021】

LC-MSにおける質量分析では、再現性の高い質量スペクトルが得られること、500ppm以下の高い質量精度を有すること、一定範囲の m/z の分子イオンに対して衝突誘起解離 (CID) をかけ、当該分子イオンのフラグメントイオンの質量スペクトルが得られることが好ましい。

【0022】

このように、試料をLC-MSにより分析し、質量/電荷比 (以下、 m/z と称する)、イオン強度及び保持時間を測定することによって、試料の分析結果を3次元スペクトルとして取得することができる。なお、LC-MSによる分析は、保持時間に関するデータ、 m/z に関するシグナル及びイオン強度に関するデータを、コンピ

ュータに入力し、詳細を後述するアルゴリズムに従って処理を行うことにより図 1 に示すような 3 次元スペクトルとして取得することができる。本アルゴリズムは、コンピュータソフトウェアに搭載することができる。当該ソフトウェアをコンピュータにインストールすることによって、本アルゴリズムをコンピュータ上で実現することができる。従って、図 1 に示すような 3 次元スペクトルは、コンピュータの表示装置に表示することができる。

【0023】

従前の LC-MS による解析方法においては、単に試料の分画のために LC を行っているため、保持時間は解析対象パラメータとして使われておらず、試料の分析結果として横軸に m/z 、縦軸にイオン強度をとった 2 次元スペクトルが解析対象となりうるに過ぎなかった。これに対して本発明に係る解析方法によれば、試料の分析結果を 3 次元スペクトルとして取得することができるため、試料の分析能を飛躍的に向上させることができる。具体的には、本発明に係る解析方法によれば、保持時間を示す軸の方向に広がりを持ったスペクトルを取得でき、従前の解析方法と比較してより多数の成分に関するスペクトルを同定することができる。例えば、複数の試料について得られた 3 次元スペクトルを比較することで各試料の成分分析をより厳密に行うことができる。

【0024】

次に、本発明に係る解析方法においては、以上のように測定した保持時間を、本発明に係るアルゴリズムによって補正することもできる。ここで、一般に保持時間は、LC における移動相の組成、流速、カラム温度等のファクターが時間的に微小な変化を生じることから、非線形的に変動することが多い。したがって、本発明に係る解析方法で取得された 3 次元スペクトルに関しても、複数の試料について解析を行った場合に試料間の保持時間を示す軸が非線形的に変動していることが考えられる。そこで、本発明に係るアルゴリズムにおいては、保持時間の補正を行う。

【0025】

以下、当該アルゴリズムについて説明するが、当該アルゴリズムは保持時間の補正に限定されず、多次元パラメータが得られた場合に少なくとも 1 次元のパラ

メータを補正する場合に広く適用することができる。言い換えると、当該アルゴリズムは、試料の分析の結果として得られた多次元パラメータ（例えば3次元パラメータ）における、少なくとも1次元のパラメータを補正する際に適用することができる。従って、以下の説明においては、 $p+q$ 次元の測定データを取得した場合のアルゴリズムについて説明する。

先ず、補正対象とするパラメータを含む p 次元のパラメータを

【0026】

【数1】

$$(x_1 \ \cdots \ x_p)$$

とし、補正の際に参照する q 次元の測定値を

【0027】

【数2】

$$(y_1 \ \cdots \ y_q)$$

とすると、データの集合（プロファイル） z は

【0028】

【数3】

$$Z = (x_1 \ \cdots \ x_p \ y_1 \ \cdots \ y_q)$$

【0029】

となる。ここで、 x 及び y は、データ点の個数 N の次元を持つ列ベクトルである。なお、データ点とは、上記プロファイル行列（ z ）の1つの行を構成する $p+q$ 次元のベクトルであり、測定対象の1つの要素について、測定パラメータと値の組を表している。特に、

【0030】

【数4】

$$n \in \{1, \dots, N\}$$

番目のデータ点を

【0031】

【数5】

$$\overline{Z(n)} = (x_1(n) \cdots x_p(n) \ y_1(n) \cdots y_q(n))$$

のようにも表す。

【0032】

また、補正の基準となる測定値を

【数6】

$$\overline{Z(*s)} = (x_1(*s) \cdots x_p(*s) \ y_1(*s) \cdots y_q(*s))$$

とする。ここで、sは1～S（Sは基準点の数）を意味する。また、

【0033】

【数7】

$$\overline{Z(*s)}$$

は、いずれも各基準点のとり値が推定可能な範囲に収まらなくてはならない。

【0034】

さらに、本アルゴリズムにおいて補正を行うためには2つ以上のプロファイル
データ

【数8】

$$\mathbf{Z}^{(1)} = (\mathbf{x}_1^{(1)} \cdots \mathbf{x}_p^{(1)} \ \mathbf{y}_1^{(1)} \cdots \mathbf{y}_q^{(1)})$$

及び

【0035】

【数9】

$$\mathbf{Z}^{(2)} = (\mathbf{x}_1^{(2)} \cdots \mathbf{x}_p^{(2)} \ \mathbf{y}_1^{(2)} \cdots \mathbf{y}_q^{(2)})$$

が必要となる。

【0036】

以上のような定義の下で、本アルゴリズムにおいては先ず、 p 個のパラメータ軸

【数10】

$$x_1 \cdots x_p$$

それぞれにおいて取りうる値を量子化する。次いで、 p 個のパラメータ軸

【0037】

【数11】

$$x_1 \cdots x_p$$

それぞれにおいて

【0038】

【数12】

$$\mathbf{x}_i^{(1)}$$

及び

【0039】

【数13】

$$\mathbf{x}_i^{(2)}$$

(但し

【0040】

【数14】

$$i \in \{1, \dots, p\}$$

) の各データ点を順列を保って対応付けを行う。なお、一般に、

【0041】

【数 15】

 $Z^{(1)}$ 及び $Z^{(2)}$

に含まれるデータ点の個数は異なりうるので、全てのデータ点が1対1に対応するわけではなく、対応する相手のないデータ点も含むことに留意する。

【0042】

このとき、例えば、以下のような評価関数を用いてプロファイル全体での対応付けの評価得点 E を算出する。なおこの評価得点は、大きいほどよい「得点」として定義すること、逆に小さければよい「失点」として定義することも可能である。以下では失点としての定義で説明する。

【0043】

【数 16】

$$E = \sum_{i=1, j=1}^{N_1, N_2} \left\{ f(x_1^i, x_1^j, \dots, x_p^i, x_p^j, y_1^i, y_1^j, \dots, y_q^i, y_q^j) \right. \\ \left. \delta \right.$$

【0044】

上記評価関数において、関数 f は、 i 番目と j 番目のデータ点に対応する場合である。また、関数 f は、対応する点の類似度合いの距離を与える関数で、例えば以下のような関数を挙げることができる。

【0045】

【数 17】

$$f(x_1^i, x_1^j, \dots, x_p^i, x_p^j, y_1^i, y_1^j, \dots, y_q^i, y_q^j) = \sum_{r=1}^p \alpha_r \cdot \|x_r^i - x_r^j\| + \sum_{s=1}^q \beta_s \cdot \|y_s^i - y_s^j\|$$

【0046】

なお、本アルゴリズムにおいては、上記関数に限定されるものではない。例えば、このようなデータ点 (i, j) 間のパラメータ或いは測定値の距離の線形結合

だけではなく、両者の距離に応じた任意の関数、更には直前若しくはそれまでに連続して対応したデータ点列におけるパラメータ間の距離も勘案した関数を定義することも可能である。

【0047】

但し、対応する点が基準点である場合、以下のような特別な得点（但し距離なので失点）となる。具体的には、対応する両データ点が基準点に由来する場合 S_v として、対応する両データ点が測定値に由来する場合に与える失点より遙かに小さい失点を設定し、また、対応する一方のデータ点が基準点に由来する場合 S_p として、対応する両データ点が測定値に由来する場合より与える失点より遙かに大きい失点を設定する。

【0048】

また上記評価関数において、 δ は対応するデータ点がない場合のペナルティスコアを意味する。但し、 δ は、定数であっても良いし、所定の関数によって算出される値であっても良い。例えば、隣接するデータ点に対応するか否か、対応しないデータ点が出現した列の長さ等を考慮した関数によって δ を算出することができる。

【0049】

以上、説明したアルゴリズムによって、本発明に係る解析方法で取得された3次元スペクトルに関して、保持時間を示すパラメータの補正を行うことができる。本発明に係る解析方法で取得された3次元スペクトルに関して、上記アルゴリズムを適用する場合、以下の（a）～（d）の手順に従って説明することができる。

【0050】

（a）保持時間補正の概念

保持時間を補正する操作は、 m/z 、イオン強度及び補正時間からなる単一の三次元パラメータ集合体を対象とするのではなく、2つの三次元パラメータ集合体の比較によって実現される。三次元パラメータ集合体は、図2に示すように、 m/z と保持時間をそれぞれ行と列にとった行列において、 m/z と保持時間が対応する位置の行列要素にイオン強度が入るような形で表される。保持時間を補正する対

象の三次元パラメータ集合体をそれぞれS1及びS2とすると、保持時間の補正操作は、S1及びS2における2つの行列で、保持時間軸に相当する列の対応関係を決める操作（以下、「対応配置の検索」と呼ぶ）に他ならない。例えば、図2に示す行列をS1の行列とし、図3に示す行列をS2の行列とすると、図4のような配置が望ましい重ね合わせ配置（対応配置）である。

【0051】

（b）2つの3次元パラメータ集合体間の対応配置の探索

図4に示すような対応配置を探索するためには、可能なすべての保持時間の対応付けを考える。この際、配置の対応関係の良し悪しを評価するスコアを定義し、配置毎にスコアを計算し、その中でもっともスコアがよいものを採用することで目的とする最適な対応配置を得ることができる。図5は、図2と図3に示した三次元パラメータ集合体S1及びS2に関して、保持時間の可能なすべての対応付けを示したものである。横方向にS1の保持時間、縦方向にS2の保持時間が記されているが、（イ）S1及びS2でそれぞれ対応する対応時間のある場合が斜線、（ロ）S1の所定の保持時間に対してS2の方に対応するものがない場合が横線、（ハ）S2の所定の保持時間に対してS1の方に対応するものがない場合が縦線で示されている。S1及びS2の全体的な保持時間の対応付けは、図5の格子の最左上角から最右下角にいたる経路を、これら斜線・横線・縦線をなぞることで求めることに相当する。但し、一度下がったり右に進んだらそれを逆に上や左に戻るような経路は許されない。図5において太線で示された経路は、図4の対応配置に相当する。

【0052】

（c）保持時間対応配置の良否を判断するためのスコア

保持時間に関する対応配置の良否を判断するスコアは、例えば、次のようにして定義することができる。

- i) 最左上点におけるスコア、すなわちまだ対応関係がまったく決まっていない点でのスコアを0とする。
- ii) 前述の（イ）（ロ）及び（ハ）のうちいずれかの場合をとることにより、対応関係が1段階進んだ場合は、その直前のスコアに対して、（イ）（ロ）及び（

ハ) 毎に決められたスコアを加算することで、新たな対応関係の点におけるスコアとなる。例えば、以下のように (イ) (ロ) 及び (ハ) 毎にスコアを設定することができる。

【0053】

(イ) の場合 (図5において斜線方向に進む場合) :

この場合、所定の保持時間に関して、S1及びS2が互いに対応付けられるわけである。したがって、この場合、加算されるスコアとしては、 m/z パラメータとイオン強度パラメータがS1及びS2間でどれだけ類似或いは離れているかを反映した値を設定することができる。以下の説明では類似度としてスコアを定義した場合について説明する。例えば、S1において所定の m/z の元でイオン強度が検出されているのにS2には同 m/z の元でイオン強度が検出されなかったケース、あるいはその逆のケースであれば、一定の値 (ペナルティスコア) を減じるようにスコアを設定することができる。また、所定の m/z においてS1及びS2それぞれにイオン強度が得られている場合、例えば両イオン強度の差の絶対値に所定の係数を乗じて算出される値 (ペナルティスコア) を減じるようにスコアを設定することができる。さらに、スコアとしては、両イオン強度の違いが大きければ大きいほど、得点が小さくなるような関数で算出されるものであっても良い。

【0054】

一方、S1及びS2における保持時間のずれもスコアに反映させることもできる。例えば、S1及びS2における保持時間の差の絶対値に所定の係数を乗して算出された値 (ペナルティスコア) を減じるようにスコアを設定することができる。スコアとしては、S1及びS2における保持時間の違いが大きければ大きいほど、得点が小さくなるような関数で算出されるものであっても良い。

【0055】

なお、標準物質由来のシグナルがS1及びS2で対応する場合には、スコア算定上特別な措置を施すことが好ましい。特に、これらの点がS1及びS2間で一致することは強く求められるので、S1及びS2ともに標準物質由来シグナルとして対応付けられる場合には大きな得点を、逆に一方だけしか標準物質由来シグ

ナルが見つからない場合には大きな失点を与える。

【0056】

(ロ) 及び (ハ) の場合 (図5において縦又は横方向に進む場合)

この場合、所定の保持時間に関して、S1及びS2において対応する保持時間を見出せなかったわけである。したがって、この場合、所定の値（ペナルティスコア）を減じるようなスコアを設定する。

iii) このようにして図5の格子の最左上角から最右下角にいたるまで、段階的にスコアを求めてゆき、最後に最右下角までいたった時点でのスコアが、得られた対応配置に対応するスコアになる。

【0057】

(d) 保持時間に関する最適な対応配置を求める手順

基本的には、可能なすべての対応配置を列挙し、それぞれについてスコアを計算し、その中で最大のスコアを示す対応配置を選択すればよいわけであるが、上述したように、スコアは漸化式で与えられるため、「動的計画法」に適している問題である。すなわち、3次元パラメータ集合体S1に含まれるi番目の保持時間とS2に含まれるj番目の保持時間の対応関係を考える際には、(イ) S1に含まれるi-1番目及びS2に含まれるj-1番目に次いでS1及びS2両者ともに対応付けられる場合、(ロ) S1に含まれるi-1番目及びS2に含まれるj番目に次いでS1の保持時間に対応するS2のパラメータがない場合、(ハ) S1に含まれるi番目とS2に含まれるj-1番目に次いでS2の保持時間に対応するS1のパラメータがない場合、の3通りを考えることとなる。いずれの場合も1段階前の状態におけるスコアがわかっているならばS1及びS2の(i, j)番目のスコアを算出することが可能となる。

【0058】

そこで(イ) (ロ) 及び (ハ) の3通りのうち、最もよいスコアを与えた場合のスコアとそこに至るまでの経路のみを記録しておき、このステップを図5に示した格子の最左上角の出発点から最右下角のゴールに達するまで続ける。そして、記録した経路を最右下角から出発点まで、逆にたどることにより、最適経路、すなわちS1及びS2における保持時間に関して、最適な対応配置を求めること

ができる。

【0059】

また、本発明に係る解析方法においては、測定したイオン強度について規格化を行う。以下にイオン強度の規格化について説明するが、イオン強度の規格化手法は何ら限定されるものではない。

【0060】

具体的には、まず、LC-MS分析に結果として得られたRAWファイルを、例えばXcaliburTMのユーティリティソフトウェアを用いてテキストファイルに変換する。次に、C言語およびPerl言語で作成されたプログラムにより、以下の一連のデータ処理を適用する。

(1) ノイズレベルのデータを除去するため、イオン強度が所定の値（例えば、 10^2 以下）以下のシグナルを除去する。

(2) 処理時間の節約のためにデータ点を集約する。具体的に、例えば、 m/z は1刻みに、保持時間は0.2刻みになるよう、元データの m/z 値および保持時間の値を丸め、同じ値を持つ(m/z 、保持時間)のデータ点は加算集計する。

(3) あらかじめ調べた m/z 値と保持時間から標準物質由来のMSシグナルを同定し、そのイオン強度値をもって測定値全体を除算することで規格化する。この際、1つないし複数の標準物質由来の複数のシグナルの平均値などの代表値を標準物質イオン強度値として用いる方法、予備実験などでシグナルの安定性を事前に検討したうえでもっとも安定なシグナルの値を用いる方法、などがある。

【0061】

より具体的に、例えばニワトリ卵白リゾチームを標準物質とした場合、 m/z 値715近傍及び877近傍のシグナルを標準シグナルとすることができる。サンプルの測定データに対しては、 m/z については前後±1の範囲で、保持時間に関しては m/z 715のシグナルについては6～16分の範囲で、 m/z 877のシグナルについては13～23分の範囲で探索することで、標準物質由来シグナルを探索することができる。なお、得られた値に 10^7 を乗じることで、標準物質由来のシグナル強度を 10^7 に補正するといった更なる補正を行ってもよい。

【0062】

以上(1)～(3)によって、測定されたイオン強度値を規格化することができ、複数の試料間におけるイオン強度の量的な比較を行うことができる。なお、測定されたイオン強度値の規格化は、上述した保持時間の補正に先立って行っても良い。

【0063】

本発明に係る試料解析方法によって m/z 、規格化されたイオン強度及び補正した保持時間からなる3次元スペクトルデータを用いて、試料中に含まれるタンパク質群等の各種成分分析をコンピュータ上で行うことができる。具体的に、成分分析としては、(a)加算の方法、(b)減算の方法を挙げることができる。

【0064】

a. 加算の方法

上述したように、本発明に係る試料解析方法によって取得された複数の3次元スペクトルデータにおいては、保持時間のパラメータをそれぞれ適切に補正しているため、データ点間の対応関係を正確に取ることができる。したがって、複数の3次元スペクトルデータにおいて、データ点同士の規格化されたイオン強度値同士を足し合わせることができる。

【0065】

b. 減算の方法

「a. 加算の方法」と同様に、本発明に係る試料解析方法によって取得された複数の3次元スペクトルデータにおいてはデータ点間の対応関係を正確に取ることができるため、データ点同士の規格化されたイオン強度値の差を求めることができる。

【0066】

このように、本発明に係る試料解析方法によって取得された複数の3次元スペクトルデータについて、加算或いは減算することができるため、以下のような、成分分析のアプローチをコンピュータ上で実現することができる。

【0067】

(1) 実験データを集計する際への応用:

1つのサンプル由来の試料を、測定の便宜上、複数の分画に分割して測定した

場合であっても、当該複数の分画それぞれから取得された3次元スペクトルデータにおいては、データ点間の対応関係を正確に取ることができる。したがって、上述した加算の方法に従って、全ての3次元スペクトルデータを足し合わせることもできる。これにより元のサンプル全体に含まれる成分の解析等を行うことが可能となる。

【0068】

(2) 複数のサンプルの測定結果の代表値を求める際の応用:

異なるサンプルに由来する複数の試料について測定した場合であっても、本発明に係る解析方法によれば、取得された複数の3次元スペクトルデータ間において、データ点間の対応関係を正確に取ることができる。したがって、上述した加算の方法に従って、全ての3次元スペクトルデータを足し合わせることもできる。そして、得られた3次元スペクトルデータの総和をサンプル数で除算することで相加平均を求めることができる。なお、必要に応じて、各サンプルに重みを設定し、当該重みを反映させた重みつき平均を算出することもできる。

これによれば、例えば、同じ範疇に属すると考えられる複数のサンプルについて、当該範疇の代表値を求めることができる。

【0069】

(3) 2つのサンプル間での測定結果の差分を求める際の応用:

例えば、同一のサンプル由来であるが状態の異なるときに採取した試料について測定した場合であっても、取得された2つの3次元スペクトルデータ間において、データ点間の対応関係を正確に取ることができる。したがって、上述した減算の方法に従って、2つの3次元スペクトルデータ間の差分を求めることができる。これにより、状態の変化に起因する試料中の成分変化を解析することができる。

【0070】

また、例えば、上述した(1)に準じて、複数のサンプルを含む2群についてそれぞれ相加平均等の代表値を求めた上で、これら2群の代表値の差を求めることができる。得られた差については、統計的な検定などによって有意性を検討することで、各群に特異的な成分を同定することができる。

【0071】

以上の(1)～(3)に示す成分分析アプローチは、本発明に係る試料解析方法によって得られた複数の3次元スペクトルデータを格納したデータベースを用いても良いし、当該データベースに格納されたデータと現実 to 得られたデータとを用いて行っても良い。いずれの場合であっても、上述した(1)～(3)に示す成分分析アプローチは、コンピュータを用いて容易に実現することができる。

【0072】

このようにして、本発明に係る試料解析方法によって得られた、例えば群特異的シグナル成分については、得られたシグナル領域に範囲を限定したタンデムMS分析などにより、当該シグナルが由来する蛋白質群を同定することができる。すなわち、本発明に係る試料解析方法においては、試料をLC-MSにより分析したときに、特定の m/z 値を持つペプチド分子イオンが検出された場合、当該イオンのCIDスペクトルを測定することができる。

【0073】

そして、得られたCIDスペクトルをコンピュータに入力し、データベース検索ソフトウェアを用いて蛋白質一次構造データベース、ゲノム配列データベースやcDNA配列データベースに対して検索する。このデータベース検索によって有意なヒットスコアを示した場合には、データベースに登録されたタンパク質或いはアミノ酸配列等の情報を得ることができ、得られたCIDスペクトルに対して当該情報を関連付けることができる。

【0074】

例えば、上述した(3)の成分分析アプローチにおいて、各群に特異的な成分として同定されたシグナルに関するCIDスペクトルを測定することで、当該シグナルが示すタンパク質群を同定することができる。

【0075】**【実施例】**

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲は以下の実施例に限定されるものではない。

【0076】

〔実施例 1〕

実施例 1 では、アミノ酸配列が既に知られているタンパク質のプロテアーゼ消化物を混合して得られるペプチド試料を LC-MS によって測定し、この測定によって得られた保持時間、 m/z 値およびイオン強度からなる三次元プロファイルに対して本発明に係るアルゴリズムを適用し、測定されたペプチド試料を定量的に特性づけた。また、実施例 1 では、比較定量的のためのモデル実験としてアミノ酸配列が既に知られているタンパク質のプロテアーゼ消化物を混合したペプチド試料数種を各々 LC-MS によって測定し、本発明の試料解析方法を適用して各三次元プロファイルを比較することによって、各ペプチド試料に含まれるタンパク質の種類の違いが検出されることを示した。

【0077】

ペプチド試料の調製

以下に列挙する 24 種類のタンパク質のトリプシン消化物を、本実施例におけるペプチド試料として調製した。(1) ウシキモトリプシノーゲン、(2) ウシカタラーゼ、(3) ウシカルボニックアンヒドラーゼ、(4) ウシアポトランスフェリン、(5) ウシカルボキシペプチダーゼ A、(6) ウシ血清アルブミン、(7) ウマシトクロム C、(8) ブタガンマ免疫グロブリン、(9) ウシヘモグロビン、(10) ウマミオグロビン、(11) ウシベータラクトグロブリン、(12) ウシデオキシリボヌクレアーゼ、(13) ウサギグリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼ、(14) トリコンアルブミン、(15) セイヨウワサビペルオキシダーゼ、(16) 枯草菌アルファアミラーゼ、(17) ウマグルタチオン S-トランスフェラーゼ、(18) ウシグルタミン酸デヒドロゲナーゼ、(19) ウシラクトペルオキシダーゼ、(20) コウジカビアミログルコシダーゼ、(21) ウサギホスホリラーゼ B、(22) ウシベータガラクトシダーゼ、(23) ウサギ乳酸デヒドロゲナーゼ、(24) ニワトリ卵白リゾチーム。これらの消化物は Michrom BioResources 社より購入した。

【0078】

これら 24 種類の各タンパク質のトリプシン消化物を以下に示すように混合し、合計 3 種類 (A 群～C 群) のペプチド試料を用意した。

A 群：(1)、(2)、(7)～(24) の 20 種類のタンパク質のトリプシン消化物。A 群を

特徴付けるタンパク質は(1)及び(2)である。B群:(3)、(4)、(7)~(24)の20種類のタンパク質のトリプシン消化物。B群を特徴付けるタンパク質は(3)及び(4)である。C群:(5)~(24)の20種類の蛋白質のトリプシン消化物。C群を特徴付ける蛋白質は(5)及び(6)である。各群のサンプルは3つずつ調製した。

【0079】

LC-MS解析

各ペプチド試料の三次元プロファイルを得るために、以下に示す装置と操作によってペプチド試料を分析した(Kawakami, T. et al, Jpn. J. Electrophoresis, 2000)。まず、減圧濃縮したペプチド試料を20 μ lの0.1%トリフルオロ酢酸/2%アセトニトリル溶液に溶解した。これを溶解液とする。

【0080】

次に、CTC Analytics 社製のオートサンプラーPAL LC-1TM を使い、Michrom BioResources 社製のMAGICMSTM C18 キャピラリーカラム(内径0.2 mm、長さ50 m m、粒径5 μ m、孔径200 オングストローム)に溶解液を導入した。ペプチドの溶出はMAGIC 2002TM HPLC システム(Michrom BioResources 社)を用いて行った。このときのHPLC移動相Aの組成は0.1%蟻酸、2%アセトニトリルの水溶液であり、移動相Bは0.1%蟻酸、90%アセトニトリルの水溶液であった。そして移動相Bの濃度を5%から85%まで直線勾配で上げ、ペプチド断片を連続的に溶出した。このときの流速は約1 μ l/minとした。LCの溶出液は、New Objective 社製のPicoChipTM ニードル(内径20 μ m)を介し、LCQTMイオントラップ型質量分析計(ThermoQuest 社)のイオン源に直接導入した。NanoESIニードルの位置は加熱キャピラリーとの距離を微調整できるようになっている。また、スプレー電圧はニードルではなく、溶離液に直接荷電するようにした。噴霧のためにガスは使用せず、スプレー電流は3.0mAとした。これを各群3回ずつ行うことによって、各試料に対応する三次元パラメータの集合体、3群計9通りを得た。このデータセットをそれぞれA1、A2、A3 (A群)、B1、B2、B3 (B群)、C1、C2、C3 (C群)とした。

【0081】

三次元パラメータ集合体を含むファイルはXcaliburTMのユーティリティソフトウェアを用いてテキストファイルに変換した。C言語及びPerl言語で作成された

プログラムにより、以下の①～⑤のデータ処理を実行した。

①ノイズレベルのデータを除去するため、イオン強度が 10^2 以下のシグナルを除去した。

②処理時間の節約のためにデータ点を集約した。具体的には、 m/z は1刻みに、保持時間は0.2刻みになるよう、元データの m/z 値および保持時間の値を丸め、同じ値を持つ m/z と保持時間の2つ組みで指定されるデータ点は加算集計した。

③標準物質であるニワトリ卵白リゾチーム由来のシグナルを同定した。すなわち、予備実験で実測した標準物質の m/z 値および保持時間の値の前後ある範囲内で、最も高いイオン強度を与えるデータ点を探し、次いでそのデータ点を中心に、イオン強度値が単調減少しかつ0より大きな範囲にあるデータ点を拾い、これらを標準物質由来のシグナルによるデータ点であると見なした。標準物質由来のシグナルの総イオン強度値としては、標準物質由来シグナルと見なされたデータ点のイオン強度の総和をもって当てた。具体的には、ニワトリ卵白リゾチーム由来の m/z 値が715近傍及び877近傍のシグナルを標準シグナルとし、サンプルの測定データからこれらの標準物質由来シグナルを探索する際には、 m/z については前後±1の範囲で、保持時間に関しては m/z 715のシグナルについては6～16分の範囲で、 m/z 877のシグナルについては13～23分の範囲で探索した。

④得られた標準物質由来シグナルの総イオン強度値をもって、各シグナルのイオン強度を除算し、得られた値に 10^7 を乗じることで、標準物質由来のシグナル強度を 10^7 に補正した。

⑤便宜上、 m/z 715のシグナルと m/z 877のシグナルのピーク位置がそれぞれ保持時間に関して10分、20分となるよう、保持時間軸を線型変換した。

以上の処理を経て得られたデータの1つを3次元プロットした例を図1に示した。

【0082】

次に、A、B及びC群それぞれ3例ずつあるサンプルから得られた三次元プロファイルの代表点を求めた。すなわち上述したように、同じ群に属するサンプルを集約した。 m/z および保持時間の重なる点のイオン強度は加算して集計した。図6に、B群に属するサンプルB1、B2及びB3を集約した結果を $m/z=572$ で切った断面につ

いて、保持時間とイオン強度をプロットした例を示す。

【0083】

また本例で使用したスコア算出式の係数は次の通り。イオン強度差については、それぞれの常用対数の差の絶対値に対して係数-1をかけたものを使用した。保持時間の差については、差の絶対値に対して係数-1000をかけたものを使用した。また各群間に対応するデータ点のシグナルがともに標準物質由来であった場合の加算点は50000点とした。一方の群において対応する保持時間の点がなかった場合の失点は5000点とした。本実施例ではこれらを単純に加算してスコアとした。

次いで、上述したように、A-B群間、B-C群間及びC-A群間で差を求めた。得られた差の有意性はt-検定によって有意水準0.1%の両側検定で検討した。

【0084】

その結果、保持時間を補正した三次元プロファイルを比較することによって、A、B及びCの各群から以下に列挙するm/z値を持つペプチド分子イオンが各群に特異的なシグナルとして検出された。

A群：495, 524, 546, 560, 671, 696, 779, 845, 871, 908, 962等。

B群：451, 464, 509, 513, 546, 555, 583, 585, 626, 635, 649, 653, 701, 720, 723, 740, 741, 753, 768, 789, 819, 821, 847, 873, 886, 922, 928, 952, 966, 973, 978, 1057, 1230等。

C群：636, 670, 674, 679, 683, 718, 734, 735, 770, 824, 870, 918等。

【0085】

また、本実施例では、特異的なシグナルとして検出されたペプチド分子イオンのCIDスペクトルを得るため、各試料をLC-MS/MS分析にかけた。分析条件は以下に示す操作以外は、上述した通りとした。すなわち、LC-MS/MS分析に際しては、イオントラップ型質量分析計の測定条件を変更し、上に列挙したm/z値を持つペプチド分子イオンが検出された場合に当該イオンのCIDを必ず行うように測定条件を設定して試料の測定を行った。

【0086】

その結果、各ペプチド分子イオンから得られたCIDスペクトルを、Matrix Scie

nce社のデータベース検索ソフトウェアであるMASCOTTMを用いて、SWISS-PROT蛋白質配列データベースに対して検索したところ、各群において特異的なタンパク質由来ペプチドとして添加した各群2種類（すなわち、A群においては上記(1)及び(2)のタンパク質、B群においては(3)及び(4)のタンパク質、C群においては(5)及び(6)のタンパク質）、合計6種類はいずれも有意なヒットスコアをもって同定された。このことから、本実施例で行った試料解析方法の妥当性が示された。

【0087】

【発明の効果】

以上、詳細に説明したように、本発明に係る試料解析方法及び試料解析プログラムによれば、試料に含まれる成分を分析するに際して、優れた分析能を達成することができる。したがって、本発明によれば、分析対象の試料中に含まれる多数の成分を網羅的に解析する場合に非常に有効且つ有益な試料解析方法及び試料解析プログラムを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係る試料解析方法及び試料解析プログラムにより取得された3次元スペクトルの一例を示す図である。

【図2】

3次元パラメータ集合体の一例を示す図である。

【図3】

図2に示した3次元パラメータ集合体との対応関係を検索するために設定したもう一つの3次元パラメータ集合体の一例を示す図である。

【図4】

図2に示した3次元パラメータ集合体と図3に示した3次元パラメータ集合体との最適な対応配置を示した図である。

【図5】

図2に示した3次元パラメータ集合体と図3に示した3次元パラメータ集合体との最適な対応配置を検索する際の概念を示す図である。

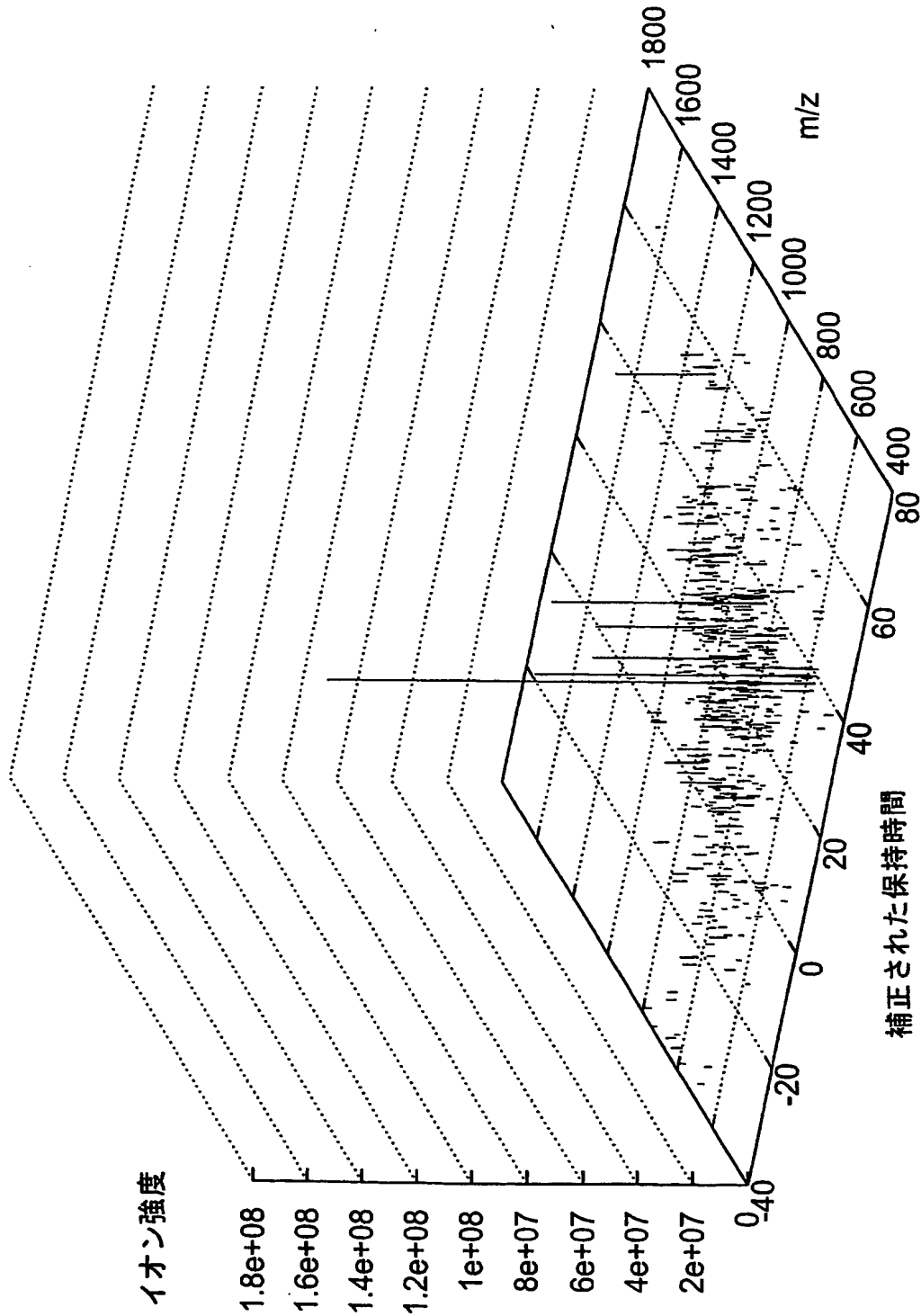
【図6】

本発明に係る試料解析プログラムによって得られた3次元スペクトルを所定の m/z 値で切った断面について、保持時間とイオン強度をプロットした例を示す図である。

【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】

保持時間 m/z	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	..
553					223	121													
560											259	153							
563	564	882	96																
590								98	216										
612																436	842	1291	461
613									21		332	48							
:																			

【図 3】

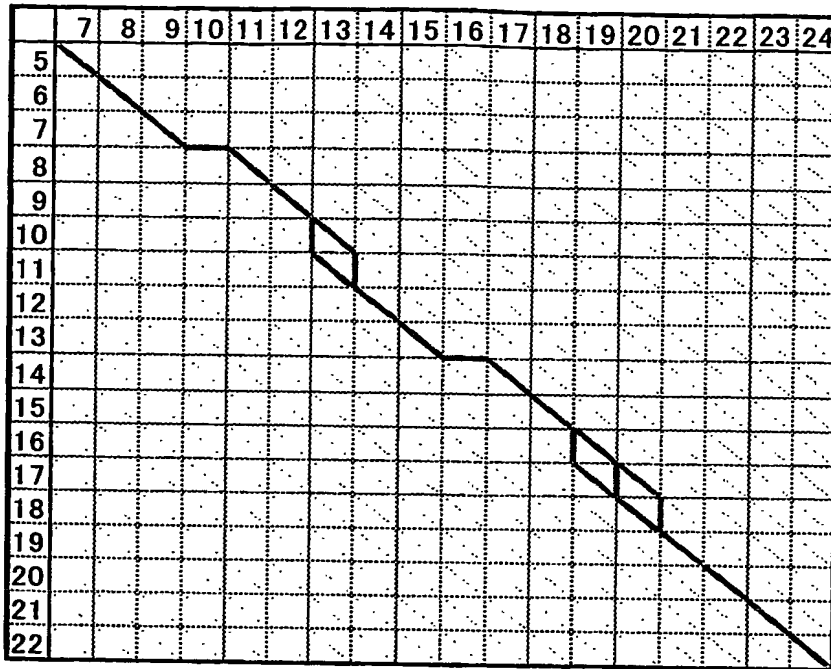
保持時間 m/z	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	..
553					223	121													
560											259	153							
563	564	882	96																
590								98	216										
612																436	842	1291	461
613									21		332	48							
:																			

【図 4】

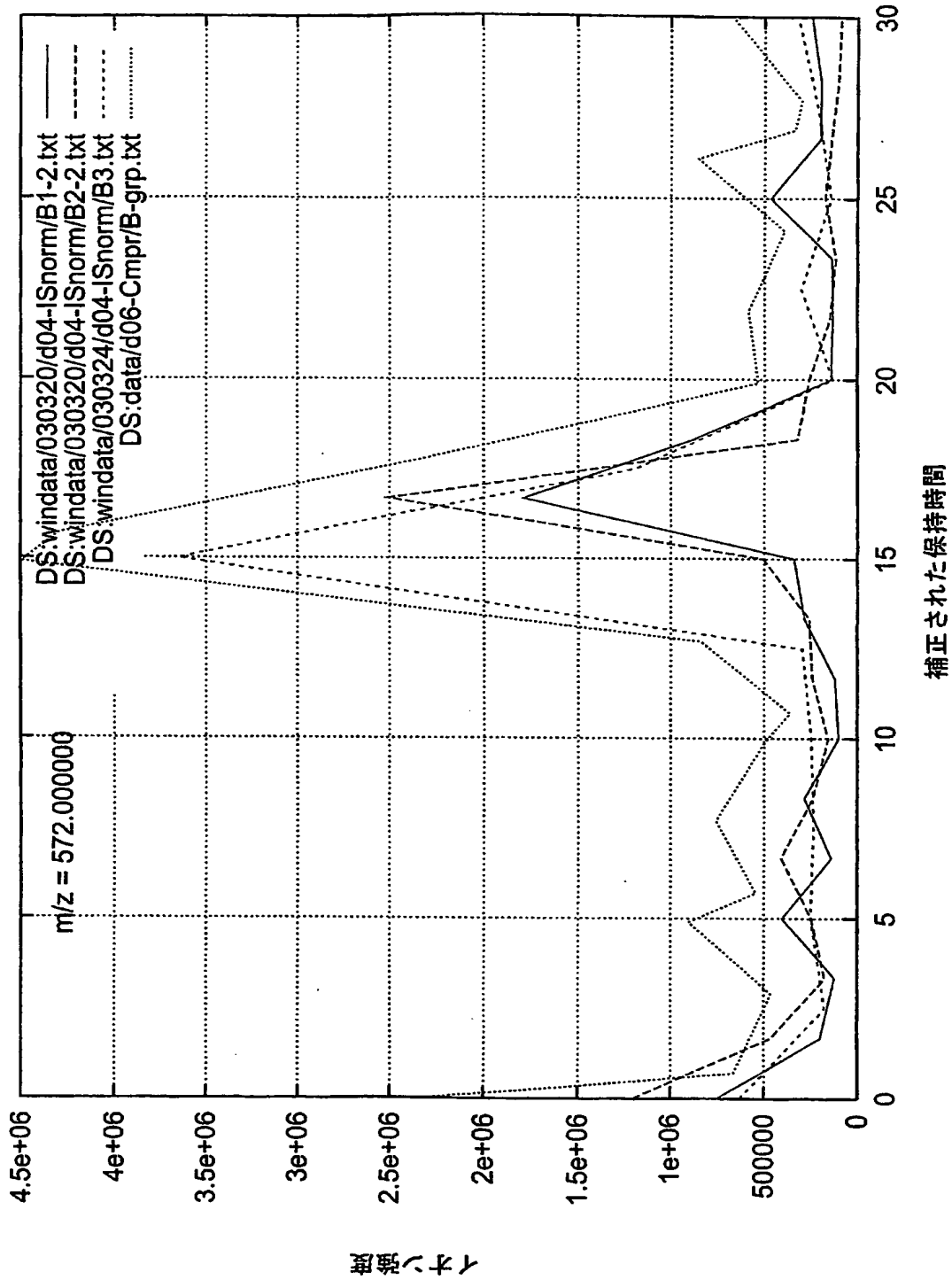
保持時間 m/z	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	..
553					223	121													
560											259	153							
563	564	882	96																
590								98	216										
612																436	842	1291	461
613									21		332	48							
:																			

保持時間 m/z	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	..
553				321	212														
560									92	323	112								
563	481	769	112																
590								121	197										
612																332	692	952	215
613									36	432	89								
:																			

【図 5】



【図6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 試料に含まれる成分を分析するに際して、優れた分析能を達成する。

【解決手段】 試料の分析の結果として得られた多次元スペクトルデータにおける、少なくとも 1 次元のパラメータを補正する工程 a と、上記工程 a により得られる補正後のデータを、複数の試料について比較する工程 b とを含む試料解析方法。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 0 9 5 7 3 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 3 1 1 9 0 3 0]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 3 月 3 1 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都新宿区西新宿 2 - 6 - 1 新宿住友ビル

氏 名

株式会社 メディカル・プロテオスコープ

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.